

PCT

WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM  
Internationales Büro



INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE  
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

<p>(51) Internationale Patentklassifikation <sup>6</sup> : C12N 15/37, C07K 14/025, 16/08, C12Q 1/68, G01N 33/569, A61K 39/12, 31/70</p>	<p>A2</p>	<p>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: <b>WO 98/23752</b>  (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 4. Juni 1998 (04.06.98)</p>
<p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE97/02659 (22) Internationales Anmeldedatum: 12. November 1997 (12.11.97)  (30) Prioritätsdaten: 196 48 962.8 26. November 1996 (26.11.96) DE  (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM STIFTUNG DES ÖFFENTLICHEN RECHTS [DE/DE]; Im Neuenheimer Feld 280, D-69120 Heidelberg (DE).  (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): DE VILLIERS-ZUR HAUSEN, Ethel-Michele [DE/DE]; Eichenstrasse 1, D-69483 Waldmichelbach (DE). ZUR HAUSEN, Harald [DE/DE]; Eichenstrasse 1, D-69483 Waldmichelbach (DE). LAVERGNE, Donna [DE/DE]; Schulberg 7, D-67592 Flörsheim-Dalsheim (DE). BENTON, Claire [GB/GB]; The Royal Infirmary, Lauriston Pl, Edinburgh EH3 9YW (GB).  (74) Anwalt: HUBER, Bernard; Huber &amp; Schüssler, Truderinger Strasse 246, D-81825 München (DE).</p>		<p>(81) Bestimmungsstaaten: JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).  Veröffentlicht <i>Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.</i></p>
<p>(54) Title: PAPILLOMA VIRUSES, AGENTS FOR DETECTING THE SAME AND FOR TREATING DISEASES CAUSED BY SUCH VIRUSES  (54) Bezeichnung: PAPILLOMVIREN, MITTEL ZU DEREN NACHWEIS SOWIE ZUR THERAPIE VON DURCH SIE VERUR- SACHTEN ERKRANKUNGEN  (57) Abstract  A DNA is disclosed that codes for a peptide of a papilloma virus main capsid protein or for a papilloma virus genome. Also disclosed are proteins coded by the papilloma virus genome and antibodies against the same, as well as their use in diagnosis, therapy and vaccination.  (57) Zusammenfassung  Die Erfindung betrifft eine DNA, die für ein Peptid eines Papillomvirus-Hauptcapsid-Proteins bzw. ein Papillomvirus-Genom codiert. Desweiteren betrifft die Erfindung durch das Papillomvirus-Genom codierte Proteine und gegen sie gerichtete Antikörper sowie deren Verwendung in Diagnose, Therapie und Vakzinierung.</p>		

# **LEDIGLICH ZUR INFORMATION**

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidshan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland		Republik Mazedonien	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	ML	Mali	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MN	Mongolei	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MR	Mauretanien	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MW	Malawi	US	Vereinigte Staaten von
CA	Kanada	IT	Italien	MX	Mexiko		Amerika
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CG	Kongo	KE	Kenia	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CM	Kamerun		Korea	PL	Polen		
CN	China	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CU	Kuba	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CZ	Tschechische Republik	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
DE	Deutschland	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DK	Dänemark	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
EE	Estland	LR	Liberia	SG	Singapur		

"Papillomviren, Mittel zu deren Nachweis sowie zur Therapie von durch sie verursachten Erkrankungen"

Die Erfindung betrifft eine DNA, die für ein Peptid eines Papillomvirus-Hauptcapsid-Proteins bzw. ein Papillomvirus-Genom codiert. Desweiteren betrifft die Erfindung durch das Papillomvirus-Genom codierte Proteine und gegen sie gerichtete Antikörper sowie deren Verwendung in Diagnose, Therapie und Vakzinierung.

Es ist bekannt, daß Papillomviren das Epithelgewebe von Mensch und Tier infizieren. Human-Papillomviren (nachstehend mit HP-Viren bezeichnet) finden sich in benignen, z.B. Warzen, Kondylome im Genitalbereich, und malignen, z.B. Karzinome der Haut und der Gebärmutter, epithelialen Neoplasmen (vgl. zur Hausen, H., Biochimica et Biophysica Acta (BBA) 1288, (1996), Seiten 55-78). Auch werden HP-Viren für die Entwicklung maligner Tumoren im Oropharyngealbereich in Betracht gezogen (vgl. zur Hausen, H., Curr. Top. Microbiol. Immunol. 78, (1977), Seiten 1-30).

Papillomviren weisen ein ikosaedrisches Capsid ohne Hülle auf, in dem ein zirkuläres, doppelsträngiges DNA-Molekül von etwa 7900 bp vorliegt. Das Capsid umfaßt ein Hauptcapsid-Protein (L1) und ein Nebencapsid-Protein (L2). Beide Proteine, coexprimiert oder L1 alleine exprimiert, führen in vitro zur Ausbildung von Virus-ähnlichen Partikeln (vgl. Kirnbauer, R. et al., Journal of Virology, (1993), Seiten 6929-6936).

Papillomviren lassen sich nicht in Monolayer-Zellkultur vermehren. Ihre Charakterisierung ist daher äußerst schwierig, wobei bereits der Nachweis von Papillomviren erhebliche Probleme schafft. Dies trifft insbesondere für Papillomviren in Karzinomen der Haut zu.

Der vorliegenden Erfindung liegt somit die Aufgabe zugrunde, ein Mittel bereitzustellen, mit dem Papillomviren, insbesondere in Karzinomen der Haut, nach-

gewiesen werden können. Ferner sollte ein Mittel bereitgestellt werden, um gegen diese Papillomviren therapeutisch vorgehen zu können.

Erfindungsgemäß wird dies durch die Bereitstellung der Gegenstände in den Patentansprüchen erreicht.

Gegenstand der Erfindung ist somit eine für ein Peptid eines Papillomvirus-Hauptcapsid-Proteins (L1) codierende DNA, wobei das Peptid die Aminosäuresequenz von Fig. 1, Fig. 2, Fig. 3, Fig. 4, Fig. 5, Fig. 6, Fig. 7, Fig. 8, Fig. 9, Fig. 10 oder Fig. 11 oder eine davon durch ein oder mehrere Aminosäuren unterschiedliche Aminosäuresequenz umfaßt.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist eine für ein Peptid eines Papillomvirus-Hauptcapsid-Proteins codierende DNA, wobei die DNA die Basensequenz von Fig. 1, Fig. 2, Fig. 3, Fig. 4, Fig. 5, Fig. 6, Fig. 7, Fig. 8, Fig. 9, Fig. 10 oder Fig. 11 oder eine davon durch ein oder mehrere Basenpaare unterschiedliche Basensequenz umfaßt.

Fig. 1 zeigt die Basensequenz und die davon abgeleitete Aminosäuresequenz einer für ein Peptid von L1 eines Papillomvirus codierenden DNA. Diese DNA wurde als Plasmid DL17 bei der DSM (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen) unter DSM 11180 am 17. Sept. 1996 hinterlegt.

Fig. 2 zeigt die Basensequenz und die davon abgeleitete Aminosäuresequenz einer für ein Peptid von L1 eines Papillomvirus codierenden DNA. Diese DNA wurde als Plasmid DL20 bei der DSM unter DSM 11181 am 17. Sept. 1996 hinterlegt.

Fig. 3 zeigt die Basensequenz und die davon abgeleitete Aminosäuresequenz einer für ein Peptid von L1 eines Papillomvirus codierenden DNA. Diese DNA wurde als Plasmid DL27 bei der DSM unter DSM 11182 am 17. Sept. 1996 hinterlegt.

Fig. 4 zeigt die Basensequenz und die davon abgeleitete Aminosäuresequenz einer für ein Peptid von L1 eines Papillomvirus codierenden DNA. Diese DNA wurde als Plasmid DL35 bei der DSM unter DSM 11183 am 17. Sept. 1996 hinterlegt.

5

Fig. 5 zeigt die Basensequenz und die davon abgeleitete Aminosäuresequenz einer für ein Peptid von L1 eines Papillomvirus codierenden DNA. Diese DNA wurde als Plasmid DL40 bei der DSM unter DSM 11184 am 17. Sept. 1996 hinterlegt.

10

Fig. 6 zeigt die Basensequenz und die davon abgeleitete Aminosäuresequenz einer für ein Peptid von L1 eines Papillomvirus codierenden DNA. Diese DNA wurde als Plasmid DL78 bei der DSM unter DSM 11185 am 17. Sept. 1996 hinterlegt.

15

Fig. 7 zeigt die Basensequenz und die davon abgeleitete Aminosäuresequenz einer für ein Peptid von L1 eines Papillomvirus codierenden DNA. Diese DNA wurde als Plasmid DL82 bei der DSM unter DSM 11186 am 17. Sept. 1996 hinterlegt.

20

Fig. 8 zeigt die Basensequenz und die davon abgeleitete Aminosäuresequenz einer für ein Peptid von L1 eines Papillomvirus codierenden DNA. Diese DNA wurde als Plasmid DL83 bei der DSM unter DSM 11187 am 17. Sept. 1996 hinterlegt.

25

Fig. 9 zeigt die Basensequenz und die davon abgeleitete Aminosäuresequenz einer für ein Peptid von L1 eines Papillomvirus codierenden DNA. Diese DNA wurde als Plasmid DL84 bei der DSM unter DSM 11188 am 17. Sept. 1996 hinterlegt.

30

Fig. 10 zeigt die Basensequenz und die davon abgeleitete Aminosäuresequenz einer für ein Peptid von L1 eines Papillomvirus codierenden DNA. Diese DNA

wurde als Plasmid DL 100 bei der DSM unter DSM 11189 am 17. Sept. 1996 hinterlegt.

5 Fig. 11 zeigt die Basensequenz und die davon abgeleitete Aminosäuresequenz einer für ein Peptid von L1 eines Papillomvirus codierenden DNA. Diese DNA wurde als Plasmid HR22 bei der DSM unter DSM 11190 am 17. Sept. 1996 hinterlegt.

10 Vorstehende DNA wurde mit der DNA bekannter Papillomviren verglichen. Es wurden Sequenzhomologie-Studien durchgeführt. Eine Homologie, die weniger als 90 % beträgt, weist eine erfindungsgemäße DNA als neues HP-Virus aus. Die erfindungsgemäßen DNAs weisen zu bekannten Papillomviren folgende Sequenzhomologien auf:

15 DNA von Fig. 1: 67 % zu HP-Virus 65  
DNA von Fig. 2: 62 % zu HP-Virus 17  
DNA von Fig. 3: 78 % zu HP-Virus 65  
DNA von Fig. 4:  
20 DNA von Fig. 5: 86 % zu HP-Virus 10  
DNA von Fig. 6: 86 % zu HP-Virus 10  
DNA von Fig. 7: 62 % zu HP-Virus 8  
DNA von Fig. 8: 66 % zu HP-Virus 65  
DNA von Fig. 9: 64 % zu HP-Virus 65  
25 DNA von Fig. 10: 75 % zu HP-Virus 15  
DNA von Fig. 11: 81 % zu HP-Virus 22 bzw. 23

30 Erfindungsgemäß kann vorstehende DNA in einem Vektor bzw. Expressionsvektor vorliegen. Beispiele solcher sind dem Fachmann bekannt. Im Falle eines Expressionsvektors für E. coli sind dies z.B. pGEMEX, pUC-Derivate, pGEM-T und pGEX-2T. Für die Expression in Hefe sind z.B. pY100 und Ycpad1 zu nennen, während für die Expression in tierischen Zellen z.B. pKCR, pEF-BOS, cDM8

und pCEV4, anzugeben sind.

Der Fachmann kennt geeignete Zellen, um vorstehende, in einem Expressionsvektor vorliegende DNA zu exprimieren. Beispiele solcher Zellen umfassen die E.coli-Stämme HB101, DH1, x1776, JM101, JM 109 und XL1-Blue, den Hefe-Stamm *Saccharomyces cerevisiae* und die tierischen Zellen L, NH-3T3, FM3A, CHO, COS, Vero, und Hela.

Der Fachmann weiß, in welcher Weise vorstehende DNA in einen Expressionsvektor inseriert werden muß. Ihm ist auch bekannt, daß vorstehende DNA in Verbindung mit einer für ein anderes Protein bzw. Peptid codierenden DNA inseriert werden kann, so daß vorstehende DNA in Form eines Fusionsproteins exprimiert werden kann.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein Papillomvirus-Genom, das vorstehende DNA umfaßt. Der Ausdruck "Papillomvirus-Genom" umfaßt auch ein unvollständiges Genom, d.h. Fragmente eines Papillomvirus-Genoms, die vorstehende DNA umfassen. Dies kann z.B. eine für L1 codierende DNA oder ein Teil davon sein.

Zur Bereitstellung vorstehenden Papillomvirus-Genoms kann ein übliches Verfahren verwendet werden. Günstig ist ein Verfahren, das folgende Verfahrensschritte umfaßt:

- (a) Isolierung der Gesamt-DNA aus einer Biopsie epithelialen Neoplasmas,
- (b) Hybridisierung der Gesamt-DNA von (a) mit vorstehender DNA, wodurch ein in der Gesamt-DNA von (a) enthaltenes Papillomvirus-Genom nachgewiesen wird, und
- (c) Klonierung der das Papillomvirus-Genom enthaltenden Gesamt-DNA von (a) in einem Vektor, und gegebenenfalls Subklonierung des erhaltenen

Klons, wobei sämtliche Verfahrensschritte üblicher DNA-Rekombinationstechnik entstammen.

5 Hinsichtlich der Isolierung, Hybridisierung und Klonierung von Zell-DNA wird ergänzend auf Sambrook et al., Molecular Cloning, A Laboratory Manual, zweite Ausgabe, Cold Spring Harbor Laboratory (1989) verwiesen.

10 Der Ausdruck "epitheliales Neoplasma" umfaßt jegliche Neoplasmen des Epithelgewebes bei Mensch und Tier. Beispiele solcher Neoplasmen sind Warzen, Kondylome im Genitalbereich und Karzinome der Haut. Letztere werden vorliegend bevorzugt verwendet, um vorstehendes Papillomvirus-Genom zu isolieren.

15 Der Ausdruck "Vektor" umfaßt jegliche zur Klonierung von chromosomaler bzw. extrachromosomaler DNA geeignete Vektoren. Beispiele solcher Vektoren sind Cosmide, wie pWE15 und Super Cos1, und Phagen, wie  $\lambda$ -Phagen, z.B.  $\lambda$ ZAP Expressvector,  $\lambda$ ZAPII Vector und  $\lambda$ gt10 Vektor. Vorliegend werden  $\lambda$ -Phagen bevorzugt verwendet. Vorstehende Vektoren sind bekannt und bei der Firma Stratagene erhältlich.

20 Erfindungsgemäße Papillomvirus-Genome können integriert in chromosomaler DNA oder extrachromosomal vorliegen. Dem Fachmann sind Verfahren bekannt, dies abzuklären. Auch weiß er um Verfahren, die zur Klonierung der Papillomvirus-Genome optimalen Restriktionsenzyme herauszufinden. Er wird sich an 25 Genomen bekannter Papillomviren orientieren. Insbesondere wird der Fachmann die vorstehend genannten HP-Viren entsprechend beachten.

30 Beispielhaft wird die Bereitstellung eines mit DL17-G bezeichneten Papillomvirus-Genoms beschrieben. Hierzu wird die Gesamt-DNA aus einer Biopsie eines plattenepithelialen Karzinoms isoliert, mit BamHI gespalten und in einem Agarosegel elektrophoretisch aufgetrennt. Das Agarosegel wird danach einem Blotting-Verfahren unterzogen, wodurch die DNA auf eine Nitrozellulosemembran über-



tragen wird. Diese wird in ein Hybridisierungsverfahren eingesetzt, in dem die DNA von Fig. 1, ggfs. in Kombination mit einer DNA von HP-Virus 65 als markierte Probe verwendet wird. Es wird eine Hybridisierung mit der in der Gesamt-DNA vorliegenden Papillomvirus-DNA erhalten.

5

Im weiteren wird vorstehende mit BamHI gespaltene Gesamt-DNA in einem  $\lambda$ -Phagen kloniert. Die entsprechenden Klone, d.h. die die Papillomvirus-DNA enthaltenden Klone, werden durch Hybridisierung mit der DNA von Fig. 1, ggfs. in Kombination mit einer DNA des HP-Virus 65 identifiziert. Das Insert dieser Klone wird dann einer weiteren Klonierung in einem Plasmid-Vektor unterzogen, wodurch ein Klon erhalten wird, der das Papillomvirus-Genom DL17-G enthält. Das Genom wird durch Sequenzierung bestätigt.

10

In analoger Weise werden weitere Papillomvirus-Genome bereitgestellt. Sie werden entsprechend der zu ihrer Bereitstellung verwendeten DNAs bezeichnet, mit: DL20-G, DL27-G, DL35-G, DL40-G, DL78-G, DL82-G, DL83-G, DL84-G, DL100-G bzw. HR22-G.

15

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein Protein, das durch vorstehendes Papillomvirus-Genom codiert wird. Ein solches Protein ist z.B. ein Hauptcapsid-Protein (L1) oder ein Nebencapsidprotein (L2). Die Herstellung eines vorstehenden Proteins erfolgt in üblicher Weise. Beispielhaft wird die Herstellung von L1 bzw. L2 des Papillomvirus-Genoms DL17-G beschrieben. Hierzu wird das zu der DNA von Fig. 1 verwandte HP-Virus 65 herangezogen. Von diesem ist die vollständige Sequenz und die Lage einzelner für Proteine codierender DNA-Bereiche bekannt. Durch parallele Restriktionsspaltungen beider Genome und anschließender Hybridisierung mit verschiedenen, die L1 bzw. L2 codierende DNA betreffenden Fragmenten werden diese DNAs auf dem Papillomvirus-Genom DL17-G identifiziert. Sie werden durch Sequenzierung bestätigt. Die für L1 codierende DNA wird mit DL17-G-L1-DNA und die für L2 codierende DNA mit DL17-G-L2-DNA bezeichnet.

20

25

30

- Im weiteren wird die für L1 bzw. L2 codierende DNA in einen Expressionsvektor inseriert. Beispiele eines solchen für E. coli, Hefe und tierische Zellen sind vorstehend genannt. Insbesondere wird für die Expression in E. coli auf den Vektor pGEX-2T verwiesen (vgl. Kirnbauer, R. et al., supra). Nach Insertion der DL17-G-L1- bzw. DL17-G-L2-DNA wird pGEX-2T-DL17-G-L1 bzw. pGEX-2T-DL17-G-L2 erhalten. Diese Expressionsvektoren exprimieren nach Transformation von E. coli ein Glutathion S-Transferase-L1- bzw. Glutathion S-Transferase-L2-Fusionsprotein. Die Reinigung dieser Proteine erfolgt in üblicher Weise.
- Für eine weitere Expression vorstehender L1 bzw. L2 codierender DNA wird das Bacculovirus- bzw. Vacciniavirus-System genannt. Hierfür verwendbare Expressionsvektoren sind z.B. pEV mod. und pSynwtVI<sup>+</sup> für das Bacculovirus-System (vgl. Kirnbauer, R. et al., supra). Für das Vacciniavirus-System sind insbesondere Vektoren mit dem Vacciniavirus "early" (p7.5k)- bzw. "late" (Psynth, p11K)-Promotor zu nennen (vgl. Hagensee, M., E. et al., Journal of Virology (1993), Seiten 315-322). Vorliegend wird das Bacculovirus-System bevorzugt. Nach Insertion vorstehender L1 bzw. L2 codierender DNA in pEV mod. wird pEVmod.-DL17-G-L1 bzw. pEVmod.-DL17-G-L2 erhalten.
- Der erstere Expressionsvektor alleine bzw. beide Expressionsvektoren zusammen führen nach Infektion von SF-9 Insektenzellen zur Ausbildung von Virus-ähnlichen Partikeln. Im ersteren Fall umfaßt ein solches Partikel ein L1-Protein, während es im letzteren Fall neben einem L1- auch ein L2-Protein enthält.
- Ein Virus-ähnliches Partikel letzteren Falls wird auch erhalten, indem die vorstehenden DL17-G-L1- und DL17-G-L2-DNAs gemeinsam in den Expressionsvektor pSynwtVI<sup>+</sup> inseriert werden und das erhaltene pSynwtVI<sup>+</sup>-DL17-G-L1/L2 zur Infektion von SF-9 Insektenzellen verwendet wird. Die Reinigung vorstehender Virus-ähnlicher Partikel erfolgt in üblicher Weise. Sie stellen auch einen Gegenstand der Erfindung dar.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein gegen ein vorstehendes Protein

bzw. Virus-ähnliches Partikel gerichteter Antikörper. Die Herstellung eines solchen erfolgt in üblicher Weise. Beispielhaft wird es für die Herstellung eines Antikörpers beschrieben, der gegen ein L1 von DL17-G umfassendes Virus-ähnliches Partikel gerichtet ist. Hierzu wird das Virus-ähnliche Partikel BALB/c-Mäusen subcutan injiziert. Diese Injektion wird im Abstand von jeweils 3 Wochen wiederholt. Etwa 2 Wochen nach der letzten Injektion wird das den Antikörper enthaltende Serum isoliert und in üblicher Weise getestet.

In bevorzugter Ausführungsform ist der Antikörper ein monoklonaler Antikörper. Zu seiner Herstellung werden nach vorstehender vierten Injektion den Mäusen Milzzellen entnommen und diese in üblicher Weise mit Myelomzellen fusioniert. Die weitere Klonierung erfolgt ebenso nach bekannten Verfahren.

Mit der vorliegenden Erfindung wird es ermöglicht, Papillomviren, insbesondere in Karzinomen der Haut, nachzuweisen. Hierzu kann die erfindungsgemäße DNA als solche oder von einer weiteren DNA umfaßt eingesetzt werden. Letztere kann auch ein Papillomvirus-Gom oder ein Teil davon sein.

Die vorliegende Erfindung ermöglicht ferner die Bereitstellung von bisher nicht gekannten Papillomviren. Diese finden sich insbesondere in Karzinomen der Haut. Desweiteren liefert die Erfindung Proteine und Virus-ähnliche Partikel, die auf diese Papillomviren zurückgehen. Darüberhinaus werden Antikörper bereitgestellt, die gegen diese Proteine bzw. Partikel gerichtet sind.

Die vorliegende Erfindung ermöglicht es also, diagnostische und therapeutische Maßnahmen bei Papillomvirus-Erkrankungen zu ergreifen. Darüberhinaus liefert sie die Möglichkeit, eine Vakzine gegen Papillomvirus-Infektionen aufzubauen. Die vorliegende Erfindung stellt somit einen Durchbruch auf dem Gebiet der Papillomvirus-Forschung dar.

Die Erfindung wird durch die Beispiele erläutert.

**Beispiel 1: Identifizierung des Papillomvirus-Genoms DL17-G**

Aus der Biopsie eines plattenepithelialen Karzinoms einer immun-supprimierten Person wird die Gesamt-DNA isoliert. 10 $\mu$ g dieser DNA werden mit dem Restriktionsenzym BamHI gespalten, und in einem 0,5 % Agarosegel elektrophoretisch aufgetrennt. Gleichzeitig werden auch 10 $\mu$ g vorstehender DNA aufgetrennt, die nicht gespalten worden ist. Das Agarosegel wird einem Blotting-Verfahren unterzogen, wodurch die DNA aus dem Agarosegel auf eine Nitrozellulosemembran übertragen wird. Diese wird in ein Hybridisierungsverfahren eingesetzt, in dem die vorstehende DNA von Fig. 1 in Kombination mit HP-Virus-65 DNA als p<sup>32</sup>-markierte Probe verwendet wird. Es wird eine Hybridisierung mit der geblotteten DNA erhalten.

Vorstehende Verfahren sind dem Fachmann auf dem Gebiet der DNA-Rekombinationstechnik bekannt. Ergänzend wird auf Sambrook et al., supra verwiesen.

**Beispiel 2: Klonierung des Papillomvirus-Genoms DL17-G**

Die aus Beispiel 1 erhaltene Biopsie-DNA wird mit dem Restriktionsenzym BamHI gespalten. Die erhaltenen Fragmente werden in eine Ligasereaktion eingesetzt, in der ebenfalls der mit BamHI gesplattene und dephosphorylierte Vektor  $\lambda$ ZAP Express vorliegt. Die hierbei erhaltenen rekombinanten DNA-Moleküle werden in Bakteriophagen verpackt und diese zur Infektion von Bakterien verwendet. Für diese Verfahrensschritte wird der von der Firma Stratagene angebotene ZAP Express Vektor Kit verwendet. Die erhaltenen Phagenplaques werden dann einem Hybridisierungsverfahren unterzogen, in dem die in Beispiel 1 verwendete p<sup>32</sup>-markierte DNA von Fig. 1 in Kombination mit p<sup>32</sup>-markierter HP-Virus-65-

- 11 -

DNA verwendet wird. Es wird eine Hybridisierung mit entsprechenden Phagenplaques erhalten. Aus diesen werden die BamHI-Fragmente von DL17-G isoliert und zusammen mit einem BamHI-gespaltenen, dephosphorylierten Plasmid-Vektor, pBluescript, in eine weitere Ligasereaktion eingesetzt. Die erhaltenen rekombinanten DNA-Moleküle werden zur Transformation von Bakterien, E. coli XL1-Blue, verwendet. Durch Restriktionsspaltungen bzw. Hybridisierung mit vorstehenden DNA-Proben wird ein das Papillomvirus-Genom DL17-G enthaltender Bakterienklon identifiziert. Das Plasmid dieses Bakterienklons wird mit pBlue-DL17-G bezeichnet.

5

10

**Patentansprüche**

- 5 1. DNA, codierend für ein Peptid eines Papillomvirus-Hauptcapsid-Proteins, wobei das Peptid die Aminosäuresequenz von Fig. 1, Fig. 2, Fig. 3, Fig. 4, Fig. 5, Fig. 6, Fig. 7, Fig. 8, Fig. 9, Fig. 10 oder Fig. 11 oder eine davon durch ein oder mehrere Aminosäuren unterschiedliche Aminosäuresequenz umfaßt, und wobei die DNA durch folgende Verfahrensschritte erhältlich ist:
- 10
- (a) Isolierung der Gesamt-DNA aus einer Biopsie epithelialen Neoplasmas,
  - (b) Hybridisierung der Gesamt-DNA von (a) mit einer DNA von Fig. 1, Fig. 2, Fig. 3, Fig. 4, Fig. 5, Fig. 6, Fig. 7, Fig. 8, Fig. 9, Fig. 10 oder Fig. 11, wodurch ein in der Gesamt-DNA von (a) enthaltenes Papillomvirus-Genom nachgewiesen wird, und
  - (c) Klonierung der das Papillomvirus-Genom enthaltenden Gesamt-DNA von (a) in einem Vektor sowie Sequenzierung des Klons.
- 15
- 20 2. DNA nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die für das Peptid des Papillomvirus-Hauptcapsid-Proteins codierende DNA die Basensequenz von Fig. 1, Fig. 2, Fig. 3, Fig. 4, Fig. 5, Fig. 6, Fig. 7, Fig. 8, Fig. 9, Fig. 10 oder 11 oder eine davon durch ein oder mehrere Basenpaare unterschiedliche Basensequenz umfaßt, und wobei die DNA durch folgende Verfahrensschritte erhältlich ist:
- 25
- (a) Isolierung der Gesamt-DNA aus einer Biopsie epithelialen Neoplasmas,
  - (b) Hybridisierung der Gesamt-DNA von (a) mit einer DNA von Fig. 1, Fig. 2, Fig. 3, Fig. 4, Fig. 5, Fig. 6, Fig. 7, Fig. 8, Fig. 9, Fig. 10 oder Fig. 11, wodurch ein in der Gesamt-DNA von (a) enthaltendes
- 30

- 13 -

Papillomvirus-Genom nachgewiesen wird, und

- (c) Klonierung der das Papillomvirus-Genomenthaltenden Gesamt-DNA von (a) in einem Vektor sowie Sequenzierung des Klons.

- 5      3.      DNA nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß die DNA ein Papillomvirus-Genom umfaßt.
4.      Protein, codiert durch das Papillomvirus-Genom nach Anspruch 3.
- 10     5.      Protein nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß das Papillomvirus-Hauptcapsid-Protein als Virus-ähnliches Partikel vorliegt.
6.      Protein nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß das Virus-ähnliche Partikel auch ein Papillomvirus-Nebencapsid-Protein enthält.
- 15     7.      Expressionsvektor, umfassend eine für das Protein nach Anspruch 4 codierende DNA.
8.      Transformante, enthaltend den Expressionsvektor nach Anspruch 7.
- 20     9.      Verfahren zur Herstellung des Proteins nach Anspruch 4, umfassend die Kultivierung der Transformante nach Anspruch 8 unter geeigneten Bedingungen.
- 25     10.     Antikörper, gerichtet gegen das Protein nach einem der Ansprüche 4-6.
11.     Verwendung der DNA nach einem der Ansprüche 1-3 als Reagens zur Diagnose.
12.     Verwendung des Proteins nach einem der Ansprüche 4-6 als Reagens zur
- 30     Diagnose, Therapie und/oder Vakzinierung.

- 14 -

13. Verwendung nach Anspruch 11 oder 12, wobei die Diagnose Papillomvirus-Infektionen bzw. -Erkrankungen betrifft.
  14. Verwendung nach Anspruch 12, wobei die Therapie und/oder Vakzinierung Papillomvirus-Infektionen bzw. -Erkrankungen betrifft.
- 5



DL17.seq from 1 to 416:

```
CTCGAGGATGGGGAAATGTGCGATATTGGATTGGAGCATGCAATTTTAAACAGTTACAG
1 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 60
GAGCTCCTACCCCTTTACACGCTATAACCTAAACCTCGTACGTTAAAAATTTGTCAATGTC

L E D G E M C D I G F G A C N F K Q L Q -

AAGGATAGATCTGGTGTTCATTAGATATAGTAGAGAGCACTTGTAAGTATCCTGATTTT
61 -----+-----+-----+-----+-----+ 120
TTCCTATCTAGACCACAAGGTAATCTATATCATCTCTCGTGAACATTCATAGGACTAAAA

K D R S G V P L D I V E S T C K Y P D F -

TTAAAGATGGGTAAGGATATGTATGGCGACGAGCTATTTTCTATGGCAGACGAGAACAG
121 -----+-----+-----+-----+-----+ 180
AATTCTACCCATTCTTATACATACCGCTGCTCGATAAAAAGATACCGTCTGCTCTTGTC

L K M G K D M Y G D E L F F Y G R R E Q -

TTATATGTAAGACATAACTTTTCTCGTGCAGGCACTGTAGGAGATAGTATACCTTTACCT
181 -----+-----+-----+-----+-----+ 240
AATATACATTCTGTATTGAAAAGAGCACGTCCGTGACATCCTCTATCATATGGAAATGGA

L Y V R H N F S R A G T V G D S I P L P -

GATCAGGATACTGCATTTTATAGAAGTCCTAATACTGCAAATAATGATTTGCCTCAAAAT
241 -----+-----+-----+-----+-----+ 300
CTAGTCCTATGACGTAAATATCTTCAGGATTATGACGTTTATTACTAAACGGAGTTTTA

D Q D T A F Y R S P N T A N N D L P Q N -

ACATTAGCGTCTCACATATACTGTGCCATCCCAAGTGGTTCTTTAACCAGTAGTGATTCT
301 -----+-----+-----+-----+-----+ 360
TGTAATCGCAGAGTGTATATGACACGGTAGGGTTACCAAGAAATTGGTCATCACTAAGA

T L A S H I Y C A I P S G S L T S S D S -

CAATTATTTAATAGGCCTTATTGGCTGCAAAATGCTCAGGGCACCAACAACGGCGT
361 -----+-----+-----+-----+-----+ 416
GTTAATAAATTATCCGGAATAACCGACGTTTTACGAGTCCCGTGGTTGTTGCCGCA

Q L F N R P Y W L Q N A Q G T N N G -
```

Fig. 1

DL20.seq from 1 to 386:

```
ATTGAGGATGGTGATATGGTAGACATAGGATTGGGAATTGTAATTTAAAGCTTTACAA
1  -----+-----+-----+-----+-----+ 60
TAACTCCTACCACTATACCATCTGTATCCTAAACCCTTAACATTAAAATTCGAAATGTT

I E D G D M V D I G F G N C N F K A L Q -

CAGGACAAGGCTGGTACGCCTTTAGAGTTAACTAATGAAAAATGTAAGTGGCCAGATTTT
61  -----+-----+-----+-----+-----+ 120
GTCCTGTTCCGACCATGCGGAAATCTCAATTGATTACTTTTTACATTCACCGGTCTAAAA

Q D K A G T P L E L T N E K C K W P D F -

CTGAAGATGGAAAAAGACACTTATGGAGACCAGATGTTTTCTGTGGCAGGAAGGAGCAA
121 -----+-----+-----+-----+-----+ 180
GACTTCTACCTTTTTCTGTGAATACCTCTGGTCTACAAAAGACACCGTCCTTCCTCGTT

L K M E K D T Y G D Q M F F C G R K E Q -

ATGTATTCTAGGCATATGCTTGCTAAAGCGGGTATTGATGGTGATCATATACCAGAATCA
181 -----+-----+-----+-----+-----+ 240
TACATAAGATCCGTATACGAACGATTCGCCCATAACTACCACTAGTATATGGTCTTAGT

M Y S R H M L A K A G I D G D H I P E S -

TTATACCATTTCGCCAAAGAATAATGGAAATGGCATTGCTCCTTACACTTACTTTCCAACC
241 -----+-----+-----+-----+-----+ 300
AATATGGTAAGCGGTTTCTTATTACCTTTACCGTAACGAGGAATGTGAATGAAAGGTTGG

L Y H S P K N N G N G I A P Y T Y F P T -

ACAAGCGGTTTCCTTAGTCACAAGTGATAATCAATTATTTAACAGGCCATATTGGCTTCAT
301 -----+-----+-----+-----+-----+ 360
TGTTCCGCAAGGAATCAGTGTTCACTATTAGTTAATAAATTGTCCGGTATAACCGAAGTA

T S G S L V T S D N Q L F N R P Y W L H -

AATTCACAAGGAACCAATAACGGTAT
361 -----+-----+-----+-----+ 386
TTAAGTGTTCCCTTGGTTATTGCCATA

N S Q G T N N G -
```

Fig. 2

DL27.seq from 1 to 410:

```

CTGGAGGATGGCGACATGTGTGATATAGGCTTTGGAGCTTTTAACTTTAAAGCTTTGCAG
1  -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 60
GACCTCCTACCGCTGTACACACTATATCCGAAACCTCGAAAATTGAAATTTCGAAACGTC

L E D G D M C D I G F G A F N F K A L Q -

GATGATAAATCCAGTGCACCATTAGATGTAGTTGGTACTTTGTGTAAATGGCCTGACTTC
61 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 120
CTACTATTTAGGTCACGTGGTAATCTACATCAACCATGAAACACATTTACCGGACTGAAG

D D K S S A P L D V V G T L C K W P D F -

TTAAAGATGAGTAAGGACATTTATGGTGACAGTTTATTCTTCTTTGGCCGAAGGGAACAG
121 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 180
AATTTCTACTCATTCTGTAAATACCACTGTCAAATAAGAAGAAACCGGCTTCCCTTGTC

L K M S K D I Y G D S L F F F G R R E Q -

CTTTATGCAAGACACTTTTTTGTAGAGCTGGGACAATGGGTGATGCGTTACCAGAGCCT
181 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 240
GAAATACGTTCTGTGAAAAACAATCTCGACCCTGTTACCCACTACGCAATGGTCTCGGA

L Y A R H F F V R A G T M G D A L P E P -

TTTGAAGTGAAGTCTGATTACATAATTGCTGCTCAGAGTAACCAAGAACAAAATAATCTT
241 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 300
AAACTTCACTTCAGACTAATGTATTAACGACGAGTCTCATTGGTTCTTGTTTTATTAGAA

F E V K S D Y I I A A Q S N Q E Q N N L -

GGCCCTCACATTTATTTTGGAACTCCTAGCGGTTCTCTTGATCAAGTGAATCTCAGCTT
301 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 360
CCGGGAGTGTAATAAAACCTTGAGGATCGCCAAGAGAACATAGTTCACTTAGAGTCGAA

G P H I Y F G T P S G S L V S S E S Q L -

TTTAACCGACCGTATTGGTTAAACAGAGCTCAGGGCACTAATAACGGCAT
361 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 410
AAATTGGCTGGCATAACCAATTTGTCTCGAGTCCCGTGATTATTGCCGTA

F N R P Y W L N R A Q G T N N G -

```

Fig. 3

4/11

DL35.seq from 1 to 383:

```

1  ATAGAGGATGGGGAAATGGTTGAAACTGGGTTCTGGGGCCCTGGATTTTGCCGCTCTACAG
   -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 60
   TATCTCCTACCCCTTTACCAACTTTGACCCAAGCCCCGGGACCTAAAACGGCGAGATGTC
   I E D G E M V E T G F G A L D F A A L Q -
61  TCCAACAAATCTGATGTCCCCCTGGATATTTGTACTAACATATGTAAATATCCGGACTAT
   -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 120
   AGGTTGTTTAGACTACAGGGGGACCTATAAACATGATTGTATACATTTATAGGCCTGATA
   S N K S D V P L D I C T N I C K Y P D Y -
121 CTGAAAATGGCTGCTGACCCCTATGGCGATTCTATGTTCTTTCCCTGCGCAGGGAGCAG
   -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 180
   GACTTTTACCGACGACTGGGGATAACCGCTAAGATACAAGAAAAGGGACGCGTCCCTCGTC
   L K M A A D P Y G D S M F F S L R R E Q -
181 ATGTTTACCCGGCATTCTTCAATCGGGGTGGGTGCGATGGGTGACGCCCTCCCGGAGGAG
   -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 240
   TACAAGTGGGCCGTAAAGAAGTTAGCCCCACCCAGCTACCCACTGCGGGAGGGCCTCCTC
   M F T R H F F N R G G S M G D A L P E E -
241 CTATACGTCAAAAAGTTCTACCGTGCAGACCCAGGTAGTTATGTTTACACCTCCACTCCC
   -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 300
   GATATGCAGTTTTCAGATGGCACGTCTGGGGTCCATCAATACAAATGTGGAGGTGAGGG
   L Y V K S S T V Q T P G S Y V Y T S T P -
301 AGTGGCTCTATGGTATCCTCTGAACAGCAGTTATTTAACAAGCCTTACTGGCTGCGGAGG
   -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 360
   TCACCGAGATACCATAGGAGACTTGTCTGTCATAAATTGTTTCGGAATGACCGACGCCTCC
   S G S M V S S E Q Q L F N K P Y W L R R -
361 GCTCAAGGTACTAATAACGGCGT
   -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 383
   CGAGTTCCATGATTATTGCCGCA
   A Q G T N N G -
```

Fig. 4

DL40.seq from 1 to 386:

```
ATGGAAGACGGAGATATGGTAGACACTGGCTATGGTGCTATGGACTTCACTGCATTACAG
1 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 60
TACCTTCTGCCTCTATACCATCTGTGACCGATACCACGATACCTGAAGTGACGTAATGTC

M E D G D M V D T G Y G A M D F T A L Q -

TTAAATAAGTCTGACGTGCCTATAGATATTTGCCAGTCCACTTGTAATAACCTGATTAT
61 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 120
AATTTATTCAGACTGCACGGATATCTATAAACGGTCAGGTGAACATTTATGGGACTAATA

L N K S D V P I D I C Q S T C K Y P D Y -

TTGGGCATGGCAGCAGAGCCTTATGGCGACAGCATGTTTTTTTATTTGCGCAGAGAGCAA
121 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 180
AACCCGTACCGTCTGCTCTCGGAATACCGCTGTCTGTACAAAAAATAAACGCGTCTCTCGTT

L G M A A E P Y G D S M F F Y L R R E Q -

CTGTTTGCAAGACATTTTTTCAATAGAGCCAGTGCAGTGGGAGACACCATTCTTGACACT
181 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 240
GACAAACGTTCTGTAAAAAAGTTATCTCGGTACGTCACCCTCTGTGGTAAGGACTGTGA

L F A R H F F N R A S A V G D T I P D T -

TTAATATTGAAGTCGGCCAGTGGTGACCAAACGTTGGTAGTGCTGTGTATAGCCCCACT
241 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 300
AATTATAACTTCAGCCGGTCACCACTGGTTTTTGCAACCATCACGACACATATCGGGGTGA

L I L K S A S G D Q N V G S A V Y S P T -

CCCAGTGGGTCCATGGTAACATCTGAGGCTCAATTATTTAATAAGCCATATTGGCTGAAG
301 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 360
GGGTCACCCAGGTACCATTGTAGACTCCGAGTTAATAAATTATTCGGTATAACCGACTTC

P S G S M V T S E A Q L F N K P Y W L K -

CGGGCTCAAGGACATAACAATGGTGT
361 -----+-----+-----+-----+-----+ 386
GCCCCGAGTTCCTGTATTGTTACCACA

R A Q G H N N G -
```

Fig. 5

6/11

DL78.seq from 1 to 386:

```
CTGGAGGATGCGGAAATGGTAGACACTGGATATGGTGCCATGGACTTTACTGCATTACAG
1  -----+-----+-----+-----+-----+ 60
GACCTCCTACGCCTTTACCATCTGTGACCTATACCACGGTACCTGAAATGACGTAATGTC

L E D A E M V D T G Y G A M D F T A L Q -

TTAAATAAGTCTGACGTGCCTATCGATATTTGCCAGTCTACCTGTAAATATCCTGATTAT
61  -----+-----+-----+-----+-----+ 120
AATTTATTCAGACTGCACGGATAGCTATAAACGGTCAGATGGACATTTATAGGACTAATA

L N K S D V P I D I C Q S T C K Y P D Y -

TTGGGCATGGCAGCAGAGCCTTATGGCGACAGCATGTTTTTTTATTTGCGCAGGGAACAA
121 -----+-----+-----+-----+-----+ 180
AACCCGTACCGTCGTCTCGGAATACCGCTGTCGTACAAAAAATAAACGCGTCCCTTGTT

L G M A A E P Y G D S M F F Y L R R E Q -

CTGTTTGCCAGACATTTTTTTTAATAGGGCTAGTGCACTTGGGGACACCATTTCCTGACACT
181 -----+-----+-----+-----+-----+ 240
GACAAACGGTCTGTAAAAAATTATCCCGATCACGTCAACCCCTGTGGTAAGGACTGTGA

L F A R H F F N R A S A V G D T I P D T -

TTGATATTGAAGGCAGCCAGTGGAGGGCAAAACGTTGGTAGTGCTGTTTACAGCCCCACA
241 -----+-----+-----+-----+-----+ 300
AACTATAACTTCCGTCGGTCACCTCCCGTTTTTGCAACCATCACGACAAATGTCGGGGTGT

L I L K A A S G G Q N V G S A V Y S P T -

CCCAGTGGGTCCATGGTAACATCTGAGGCTCAATTGTTTAATAAGCCATATTGGCTACGG
301 -----+-----+-----+-----+-----+ 360
GGGTCAACCCAGGTACCATTGTAGACTCCGAGTTAACAAATTATTTCGGTATAACCGATGCC

P S G S M V T S E A Q L F N K P Y W L R -

CGGGCTCAAGGAACGAACAACGGAGT
361 -----+-----+-----+-----+ 386
GCCCCGAGTTCCTTGCTTGTTGCCTCA

R A Q G T N N G -
```

Fig. 6

7/11

DL82.seq from 1 to 413:

```
ATCGAGGATGGGGATATGTGTGATATTGGTTTTGGAAACATGAATTCAGTATATTACAA
1  -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 60
TAGCTCCTACCCCTATACACACTATAACCAAACCTTTGTACTTAAAGTCATATAATGTT

I E D G D M C D I G F G N M N F S I L Q -

CAAGACAGATCAGGTGTTTCCTTTGGATATAGTAGCTTCCATTTGCAAATGGCCAGATCTT
61 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 120
GTTCTGTCTAGTCCACAAGGAAACCTATATCATCGAAGGTAAACGTTTACCGGTCTAGAA

Q D R S G V P L D I V A S I C K W P D L -

GGTAAATGACCAATGATGTGTATGGTGATGAACCTATTCTTTTTTGGTAAACGGGAGCAG
121 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 180
CCATTTTACTGGTTACTACACATACCCTACTTGATAAGAAAAAACCATTTGCCCTCGTC

G K M T N D V Y G D E L F F F G K R E Q -

GTTTATGCAAGGCATTATTTTACAAGGCATGGTGTTGTAGGAGAAGATATTCTCAGGTA
181 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 240
CAAATACGTTCCGTAATAAAATGTTCCGTACCACAACATCCTCTTCTATAAGGAGTCCAT

V Y A R H Y F T R H G V V G E D I P Q V -

AATGAGGACCCTACAACCTAAATACCTGCGAGGAGGTGAAGGTGGTCAAAATCAGGCTACT
241 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 300
TTACTCCTGGGATGTTGATTTATGGACGCTCCTCCACTTCCACCAGTTTTAGTCCGATGA

N E D P T T K Y L R G G E G G Q N Q A T -

GTTTCATCCTCTGTATATTTTGCAACTCCCAGTGGTTCCTTGGTGTCCAGTGATGCTCAA
301 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 360
CAAAGTAGGAGACATATAAAACGTTGAGGGTCACCAAGGAACCACAGGTCCTACGAGTT

V S S S V Y F A T P S G S L V S S D A Q -

ATTATGAACAGGCCTTATTGGGTACAACGCGCGCAGGGAACGAACAACGGCGT
361 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 413
TAATACTTGTCCGGAATAACCCATGTTGCGCGCGTCCCTTGCTTGTTGCCGCA

I M N R P Y W V Q R A Q G T N N G -
```

Fig. 7

8/11

DL83.seq from 1 to 395:

```
CTGGAGGATGGCGACATGTGTGATGTAGGATTTGGAGCTGCAAATTTTAAAACACTTCAG
1 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 60
GACCTCCTACCGCTGTACACACTACATCCTAAACCTCGACGTTTAAAATTTTGTGAAGTC

L E D G D M C D V G F G A A N F K T L Q -

GAAGATAAATCAGGAGTACCTATGGATCTTTTAAATGAAACTTGTAATATCCTGACTTT
61 -----+-----+-----+-----+-----+ 120
CTTCTATTTAGTCCTCATGGATACCTAGAAAATTTACTTTGAACATTTATAGGACTGAAA

E D K S G V P M D L L N E T C K Y P D F -

CTTCAGATGTCAAAAGACAAATATGGAGACAGTTTGTTCCTTTTTTGGGAAGAAAGGAACAA
121 -----+-----+-----+-----+-----+ 180
GAAGTCTACAGTTTTCTGTTTATACCTCTGTCAAACAAGAAAAACCTTCTTTTCCTTGT

L Q M S K D K Y G D S L F F F G R K E Q -

CTTTACGCGAGACACTTTTATGTTAGAGGAGGTGTTGATGGCGATGCATTGCCATTAACT
181 -----+-----+-----+-----+-----+ 240
GAAATGCGCTCTGTGAAAATACAATCTCCTCCACAACCTACCGCTACGTAACGGTAATTGA

L Y A R H F Y V R G G V D G D A L P L T -

AACTTTATTTATGGTGCTCAGCAGGACAAACCTCAAAACAATTTAGGACCATATACTTAC
241 -----+-----+-----+-----+-----+ 300
TTGAAATAAATACCACGAGTCGTCCTGTTTGGAGTTTTGTTAAATCCTGGTATATGAATG

N F I Y G A Q Q D K P Q N N L G P Y T Y -

TTTCCTACTCCTAGTGGCTCTTTATACTCAACCGATAATCAATTATTTAACAGACCCTAT
301 -----+-----+-----+-----+-----+ 360
AAAGGATGAGGATCACCGAGAAATATGAGTTGGCTATTAGTTAATAAATTGTCTGGGATA

F P T P S G S L Y S T D N Q L F N R P Y -

TGGCTTAGCCAGGCTCAGGGCACAAACAATGGGAT
361 -----+-----+-----+-----+ 395
ACCGAATCGGTCCGAGTCCCGTGTGTTTACCCTA

W L S Q A Q G T N N G -
```

Fig. 8



9/11

DL84.seq from 1 to 407:

```
CTAGAAGACGCGGAGATGAGTGATATTGGTTTGGGGGCAGTTAATTTTCATACGTTTTCG
1  -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 60
GATCTTCTGCGCCTCTACTCACTATAACCAAACCCCGTCAATTAAAAGTATGCAAAGC

L E D A E M S D I G L G A V N F H T F S -

GCCTCCCGTTCAGATGCTCCTTTAGAAAGTTATAGATTCAATTTGCAAATGGCCTGATTTT
61 -----+-----+-----+-----+-----+ 120
CGGAGGGCAAGTCTACGAGGAAATCTTCAATATCTAAGTTAAACGTTTACCGGACTAAAA

A S R S D A P L E V I D S I C K W P D F -

GTTTCAGATGACAAAAGATGTTTATGGAGATAAGATCTGGTTTTATGGAAAACGGGAACAG
121 -----+-----+-----+-----+-----+ 180
CAAGTCTACTGTTTTCTACAAATACCTCTATTCTAGACCAAATACCTTTTGCCTTGTC

V Q M T K D V Y G D K I W F Y G K R E Q -

CTTTATGCCAGACATATGTTTGTTAAGGATGGTGTGGACGGTGACAGTATTCCAAATGAG
181 -----+-----+-----+-----+-----+ 240
GAAATACGGTCTGTATACAAACAATTCCCTACCACACCTGCCACTGTCTAAGGTTTACTC

L Y A R H M F V K D G V D G D S I P N E -

CCCACACACGCTTATTATATTCCCCCACCCACAGGTTCTGCCCAGGAAACTAATTTTGGA
241 -----+-----+-----+-----+-----+ 300
GGGTGTGTGCGAATAATATAAGGGGGTGGGTGTCCAAGACGGGTCCTTTGATTAAAACCT

P T H A Y Y I P P P T G S A Q E T N F G -

AAGATAAGTTACTTTCCAGTTCCCAGTGGATCTTTGGTGTCCAGTGAGGCTACTATATTT
301 -----+-----+-----+-----+-----+ 360
TTCTATTCAATGAAAGGTCAAGGGTCACCTAGAAAACCACAGGTCCTCCGATGATATAAA

K I S Y F P V P S G S L V S S E A T I F -

AATAGACCTTATTGGTTGCACAAAGCTCAAGGAACAAACAATGGAAT
361 -----+-----+-----+-----+ 407
TTATCTGGAATAACCAACGTGTTTCGAGTTCCTTGTTTGTTACCTTA

N R P Y W L H K A Q G T N N G -
```

Fig. 9

10/11

DL100.seq 1 to: 413

```
ATTGAGGACGGTGATATGATCGATATTGGGTTTGGCAATATAAAATAACAAGACATTATCA
1 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 60
TAACTCCTGCCACTATACTAGCTATAACCCAAACCGTTATATTTATTGTTCTGTAATAGT

I E D G D M I D I G F G N I N N K T L S -

GTAAACAAATCAGATGTTAGTTTAGATTTAGTAAATGAAATAGCTAAATATCCAGATTTT
61 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 120
CATTTGTTTAGTCTACAATCAAATCTAAATCATTTACTTTTATCGATTATAGGTCTAAAA

V N K S D V S L D L V N E I A K Y P D F -

TTAACAATGGCTAATGATGTGTATGGCGATTCTTGCTTTTTTTTTTGGCAGGAGAGAACAA
121 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 180
AATTGTTACCGATTACTACACATACCGCTAAGAACGAAAAAAAAACGGTCCTCTCTTGTT

L T M A N D V Y G D S C F F F A R R E Q -

TGTTATGCTAGACATTATTTTACTAGAGGAGGAGCTGTGGGTGATGCTATACCTGATACA
181 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 240
ACAATACGATCTGTAATAAAATGATCTCCTCCTCGACACCCACTACGATATGGACTATGT

C Y A R H Y F T R G G A V G D A I P D T -

ACAACATAATCAAGATCACAATACTATCTAGCACCTAAGAGTGGACAATCCCAAAGTCCT
241 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 300
TGTTGATTAGTTCTAGTGTTTATGATAGATCGTGGATTCTCACCTGTTAGGGTTTTCAGGA

T T N Q D H K Y Y L A P K S G Q S Q S P -

TTGGGTAATTCTATTTACTATCCCACCGTTAGTGGCTCCTTAGTTTCTTCTGATGCACAG
301 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 360
AACCCATTAAGATAAATGATAGGGTGGCAATCACCGAGGAATCAAAGAAGACTACGTGTC

L G N S I Y Y P T V S G S L V S S D A Q -

CTCTTTAACAGACCCCTTCTGGTTGAAACGTGCACAGGGGCACAATAACGGCAT
361 -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 413
GAGAAATTGCTCGGGAAGACCAACTTGCACGTGTCCCGTGTTATTGCCGTA

L F N R P F W L K R A Q G H N N G -
```

Fig. 10

11/11

HR22.seq from 1 to 404:

```
ATACAGGATGGGGACATGTTTGATATAGGTTTGGTAATATTAACAATAAACTCTATCT
1  -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 60
TATGTCCTACCCCTGTACAAACTATATCCAAAACCATTATAATTGTTATTTTGAGATAGA

I  Q  D  G  D  M  F  D  I  G  F  G  N  I  N  N  K  T  L  S  -

TATAATAAGTCTGATGTAAGTTTAGACATTGTTAATGAAGTATGCAAATATCCAGATTTT
61  -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 120
ATATTATTTCAGACTACATTCAAATCTGTAACAATTACTTCATACGTTTATAGGTCTAAAA

Y  N  K  S  D  V  S  L  D  I  V  N  E  V  C  K  Y  P  D  F  -

TTGACAATGTCTAATGATGTGTATGGAGACGCATGCTTTTACTGTGCCCCGAAGAGAGCAA
121  -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 180
AACTGTTACAGATTACTACACATACCTCTGCGTACGAAAATGACACGGGCTTCTCTCGTT

L  T  M  S  N  D  V  Y  G  D  A  C  F  Y  C  A  R  R  E  Q  -

TGTTATGCTAGACATTATTTTGTTCGGGGAGGTCAGGTTGGAGATGCAATACCTGACGAG
181  -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 240
ACAATACGATCTGTAATAAAACAAGCCCTCCAGTCCAACCTCTACGTTATGGACTGCTC

C  Y  A  R  H  Y  F  V  R  G  G  Q  V  G  D  A  I  P  D  E  -

GCAGTCCAACAAGATCACAAATATTATTTACCTTCTGATACACGGCGCACTTTAGAAAAC
241  -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 300
CGTCAGGTTGTTCTAGTGTTTATAATAAATGGAAGACTATGTGCCGCGTGAAATCTTTTG

A  V  Q  Q  D  H  K  Y  Y  L  P  S  D  T  R  R  T  L  E  N  -

TCCACCTATTTTCCCACCGTAAGCGGGTCGTTGGTGACCTCTGATGCCCAACTATTTAAT
301  -----+-----+-----+-----+-----+-----+ 360
AGGTGGATAAAAGGGTGGCATTGCGCCAGCAACCACTGGAGACTACGGGTTGATAAATTA

S  T  Y  F  P  T  V  S  G  S  L  V  T  S  D  A  Q  L  F  N  -

AGGCCCTTTTGGTTAAAACGTGCACAAGGCCACAATAACGGAAT
361  -----+-----+-----+-----+-----+ 404
TCCGGGAAAACCAATTTTGACAGTGTTCCGGTGTTATTGCCTTA

R  P  F  W  L  K  R  A  Q  G  H  N  N  G  -
```

Fig. 11



**PCT** WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM  
Internationales Büro  
INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE  
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation 6 : <b>C12N 15/37, 15/17, C07K 14/025, 16/08, C12Q 1/68, G01N 33/569, A61K 39/12, 31/70</b>		<b>A3</b>	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: <b>WO 98/23752</b>
(21) Internationales Aktenzeichen: <b>PCT/DE97/02659</b>		(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: <b>4. Juni 1998 (04.06.98)</b>	
(22) Internationales Anmeldedatum: <b>12. November 1997 (12.11.97)</b>		(81) Bestimmungsstaaten: JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).	
(30) Prioritätsdaten: <b>196 48 962.8</b> <b>26. November 1996 (26.11.96)</b> <b>DE</b>		<b>Veröffentlicht</b> <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i> <i>Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.</i>	
(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): <b>DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM</b> <b>STIFTUNG DES ÖFFENTLICHEN RECHTS (DE/DE);</b> <b>Im Neuenheimer Feld 280, D-69120 Heidelberg (DE).</b>		(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen Recherchenberichts: <b>16. Juli 1998 (16.07.98)</b>	
(72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): <b>DE VILLIERS-ZUR HAUSEN, Ethel-Michele (DE/DE); Eichenstrasse 1, D-69483 Waldmichelbach (DE). ZUR HAUSEN, Harald (DE/DE); Eichenstrasse 1, D-69483 Waldmichelbach (DE). LAVERGNE, Donna (DE/DE); Schulberg 7, D-67592 Flörsheim-Dalsheim (DE). BENTON, Claire (GB/GB); The Royal Infirmary, Lauriston Pl, Edinburgh EH3 9YW (GB).</b>			
(74) Anwalt: <b>HUBER, Bernard; Huber &amp; Schüssler, Truderinger Strasse 246, D-81825 München (DE).</b>			

(54) Title: **PAPILLOMA VIRUSES, AGENTS FOR DETECTING THE SAME AND FOR TREATING DISEASES CAUSED BY SUCH VIRUSES**

(54) Bezeichnung: **PAPILLOMVIREN, MITTEL ZU DEREN NACHWEIS SOWIE ZUR THERAPIE VON DURCH SIE VERURSACHTEN ERKRANKUNGEN**

(57) Abstract

A DNA is disclosed that codes for a peptide of a papilloma virus main capsid protein or for a papilloma virus genome. Also disclosed are proteins coded by the papilloma virus genome and antibodies against the same, as well as their use in diagnosis, therapy and vaccination.

(57) Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft eine DNA, die für ein Peptid eines Papillomvirus-Hauptcapsid-Proteins bzw. ein Papillomvirus-Genom codiert. Desweiteren betrifft die Erfindung durch das Papillomvirus-Genom codierte Proteine und gegen sie gerichtete Antikörper sowie deren Verwendung in Diagnose, Therapie und Vakzinierung.

# **LEDIGLICH ZUR INFORMATION**

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidshan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LJ	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/DE 97/02659

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
IPC 6 C12N15/37 C12N15/17 C07K14/025 C07K16/08 C1201/68  
G01N33/569 A61K39/12 A61K31/70

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
IPC 6 C07K C12N C12Q G01N A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X,P	DE VILLIERS E.M. ET AL.: "Prevailing papillomavirus types in non-melanoma carcinomas of the skin in renal allograft recipients" INT. J. CANCER, vol. 73, 4 November 1997, pages 356-361, XP002064130 see page 358, column 1, line 52 - line 58	1-3,7
Y,P	---	5,6,8-14
Y	WO 95 30754 A (DEUTSCHES KREBSFORSCH ; SHAMANIN VLADIMIR (DE); VILLIERS ZUR HAUSEN) 16 November 1995 see page 1 - page 2 see page 5 - page 9 see claims 1-20	5,6,8-14
A	---	1-3,7
	--- -/--	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

### \* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "S" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

12 May 1998

Date of mailing of the international search report

26/05/1998

Name and mailing address of the ISA  
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Galli, I

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/DE 97/02659

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A, P	<p>WO 97 04099 A (DEUTSCHES KREBSFORSCH ;SHAMANIN VLADIMIR (DE); VILLIERS ZUR HAUSEN) 6 February 1997 see page 1 - page 2 see page 5 - page 8 see claims 11-18</p> <p>-----</p>	1-14

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

information on patent family members

International Application No

PCT/DE 97/02659

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9530754 A	16-11-1995	DE 4415743 A EP 0707652 A JP 9500285 T	09-11-1995 24-04-1996 14-01-1997
WO 9704099 A	06-02-1997	DE 19526386 C EP 0839199 A	02-01-1997 06-05-1998



# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen  
PCT/DE 97/02659

<b>A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES</b> IPK 6 C12N15/37 C12N15/17 C07K14/025 C07K16/08 C12Q1/68 G01N33/569 A61K39/12 A61K31/70		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK		
<b>B. RECHERCHIERTE GEBIETE</b> Recherchiertes Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) IPK 6 C07K C12N C12Q G01N A61K		
Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen		
Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)		
<b>C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN</b>		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X, P	DE VILLIERS E.M. ET AL.: "Prevailing papillomavirus types in non-melanoma carcinomas of the skin in renal allograft recipients" INT. J. CANCER, Bd. 73, 4. November 1997, Seiten 356-361, XP002064130 siehe Seite 358, Spalte 1, Zeile 52 - Zeile 58	1-3,7
Y, P	---	5,6,8-14
Y	WO 95 30754 A (DEUTSCHES KREBSFORSCH ; SHAMANIN VLADIMIR (DE); VILLIERS ZUR HAUSEN) 16. November 1995 siehe Seite 1 - Seite 2 siehe Seite 5 - Seite 9 siehe Ansprüche 1-20	5,6,8-14
A	---	1-3,7
-/-		
<input checked="" type="checkbox"/> Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen <input checked="" type="checkbox"/> Siehe Anhang Patentfamilie		
* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen: "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist "E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt) "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht "P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist "T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist "X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden "Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist "Z" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche  12. Mai 1998		Absendedatum des internationalen Recherchenberichts  26/05/1998
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2260 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Bevollmächtigter Bediensteter  Galli, I

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen  
PCT/DE 97/02659

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A,P	<p>WO 97 04099 A (DEUTSCHES KREBSFORSCH ;SHAMANIN VLADIMIR (DE); VILLIERS ZUR HAUSEN) 6.Februar 1997 siehe Seite 1 - Seite 2 siehe Seite 5 - Seite 8 siehe Ansprüche 11-18 -----</p>	1-14

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 97/02659

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9530754 A	16-11-1995	DE 4415743 A	09-11-1995
		EP 0707652 A	24-04-1996
		JP 9500285 T	14-01-1997
WO 9704099 A	06-02-1997	DE 19526386 C	02-01-1997
		EP 0839199 A	06-05-1998

